

## PENGARUH *PH* DAN TEMPERATUR TERHADAP KESTABILAN AKTIVITAS XILANASE DARI *Trichoderma viride*

**Sicilia Kusuma Wardani Putri, Sutrisno\*, Ellya Indahyanti**

*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya*

*Jl. Veteran Malang 65145*

\*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835

Email: tris\_mc@ub.ac.id

### ABSTRAK

Xilanase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis xilan menjadi gula pereduksi xilosa dan xilo-oligosakarida. Peneitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH dan temperature terhadap kestabilan aktivitas xilanase dari *T. viride*. Pengaruh yang ditimbulkannya diamati dengan cara mengukur aktivitas xilanase sisa setelah enzim diinkubasi selama 9 jam pada variasi pH (4, 5, 6) dan variasi temperature (50, 60, 70 °C). Aktivitas enzim dikatakan stabil bila aktivitas sisanya lebih besar atau sama dengan 50%. Aktivitas xilanase ditentukan dengan cara mengukur kadar gula pereduksi yang dihasilkan selama reaksi enzimatis, secara spektrofotometri menggunakan reagen DNS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas xilanase masih stabil setelah enzim diinkubasi selama 9 jam pada pH 4, 5, 6 dan pada temperature 50, 60, 70°C. Kestabilan aktivitas xilanase paling tinggi terjadi saat xilanase diinkubasi pada pH 5 dan temperature 60°C

**Kata kunci:** kestabilan enzim, pH, temperatur, *Trichoderma viride*, Xilanase.

### ABSTRACT

Xylanase is an enzyme that can hydrolyze xylan into reducing sugar xylose and xilo-oligosaccharides. The research was carried out to determine the effect of pH and temperature on stability of xylanase activity of *T. viride* . Its effects were observed by measuring the residual activity after the enzyme xylanase was incubated for 9 hours at pH variation (4, 5, 6) and the variation of temperature (50, 60, 70 °C ). Enzyme activity is said to be stable if the remaining activity is greater than or equal to 50%. Xylanase activity was determined by

measuring the levels of reducing sugars produced during the enzymatic reaction, by spectrophotometry using DNS reagent. The results showed that the xylanase activity remained stable after the enzyme was incubated for 9 hours at pH 4, 5, 6 and at temperatures of 50, 60, 70 °C. The stability of xylanase activity is highest when xylanase was incubated at pH 5 and temperature 60 ° C.

**Key words:** enzyme stability , pH, temperature , *Trichoderma viride*, xylanase.

## PENDAHULUAN

Enzim adalah sekelompok protein yang berfungsi sebagai katalisator untuk berbagai reaksi kimia dalam sistem biologik. Hampir tiap reaksi kimia dalam system biologis dikatalis oleh enzim. Sintesis enzim terjadi di dalam sel dan sebagian besar enzim dapat diekstraksi dari sel tanpa merusak fungsinya [1]. Xilanase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis ikatan 1,4- $\beta$  yang terdapat pada hemiselulosa dalam hal ini ialah xilan atau polimer dari xilosa dan xilooligosakarida [2]. Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim antara lain suhu, pH, oksidasi oleh udara atau senyawa lain, penyinaran ultraviolet, sinar X,  $\alpha$ ,  $\beta$  dan  $\gamma$ . Disamping itu, kecepatan reaksi enzimatik dipengaruhi pula oleh konsentrasi enzim maupun substratnya [1]. Kestabilan suatu enzim dapat dilihat dari grafik aktivitas sisa terhadap waktu inkubasi, enzim dikatakan stabil bila memiliki aktivitas sisa lebih dari 50% dan tidak terjadi penurunan drastis selama masa inkubasi [3].

Dari penelitian[4] , menunjukkan xilanase dari *Aspergillus niger* masih stabil pada pH 9 dengan aktivitas sisa sebesar 79,7% selama 9 jam waktu inkubasi dan pada temperatur 55°C dengan aktivitas sisa 91% selama 90 menit waktu inkubasi. Dari uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang penentuan kestabilan aktivitas enzim xilanase yang diisolasi dari kapang *T. viride* berdasarkan pengaruh pH dan temperature sehingga didapatkan informasi tentang kestabilan aktivitas enzim xilanase tersebut setelah enzim disimpan atau diinkubasi pada kondisi pH dan temperature serta rentang waktu tertentu.

## METODA PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah kultur murni kapang *Trichoderma viride*, pepton, asam oleat,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , glukosa anhidrat, reagen biuret, buffer asetat pH 4, 5, 6, buffer fosfat pH 7, reagen DNS, xilan, amonium sulfat, HCl 0,01M,  $\text{BaCl}_2$  0,1M, kentang, pepton, tepung agar, dextrosa, dan klobot jagung, aquades. Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, jarum ose, pengaduk magnet, neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), inkubator (Heraeus Type B 5042), pH meter (Inolab WTW), penangas air (Wemmert W 200), autoklaf (All, American Model 20X), shaker (Edmund Buhler SM 25 24B), sentrifugase dingin (Juan MR 1889), pemanas listrik (Janke-Kunkel), dan Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Model 160A double beam).

### Prosedur preparasi xilanase

*T. viride* yang ditumbuhkan dalam media padat miring selama 144 jam (pH 5 dan 30°C) disuspensikan ke dalam 10 mL akuades steril menggunakan jarum ose. Suspensi diambil sebanyak 2 mL dan ditanam pada 13 mL media cair steril. Diinkubasi dengan shaker kecepatan putar 150 rpm pada temperatur ruang selama 36 jam. Inokulum yang mengandung *T. viride* ditumbuhkan dalam 150 mL media pertumbuhan pada temperatur kamar dengan kecepatan 150 rpm hingga mencapai jam ke-60. Media hasil fermentasi ditambahkan 15 mL buffer asetat pH 5 dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit pada temperatur 4°C. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar xilanase. Ekstrak kasar xilanase dimurnikan menggunakan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 40-80%, dilanjutkan dengan dialisis menggunakan kantong selofan. Xilanase hasil pemurnian diuji aktivitasnya.

### Penentuan aktivitas xilanase

Penentuan aktivitas xilanase dilakukan dengan cara mereaksikan 1 mL substrat xilan 1% (b/v) yang telah diinkubasi pada temperatur 60°C selama 15 menit dengan 1 mL enzim, 1 mL buffer asetat pH 5 dan 1 mL air bebas reduktor. Campuran diinkubasi pada temperatur 60°C selama 55 menit dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 15 menit, lalu didinginkan dengan air mengalir. Setelah dingin ditambahkan 2 mL reagen DNS dan dipanaskan pada 100°C selama 15 menit kemudian didinginkan dengan air mengalir. Serapan

diukur pada panjang gelombang 495 nm dengan spektrometri 20 dan diplotkan ke dalam persamaan regresi kurva baku gula pereduksi.

Satu unit aktivitas enzim diartikan sebagai 1 µg xilosa yang dihasilkan per menit per mL enzim.

### **Pengaruh pH dan Temperatur terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim**

#### **Pengaruh pH**

Enzim xilanase diatur pada variasi pH yang diinginkan, dengan ditambahkan buffer asam asetat, diinkubasi pada temperatur 60 °C selama 9 jam. Setelah selesai diinkubasi ditambahkan substrat xilan sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit dan didinginkan sampai suhu kamar. Ditambahkan buffer asetat pH 5 sebanyak 5 mL, air bebas reduktor 1 mL, diinkubasi pada 60 °C selama 55 menit, dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit. Ditambahkan 2 mL DNS dan dipanaskan selama 5 menit dalam air mendidih, didinginkan. Setelah dingin dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditandabatkan dengan akuades. Sampel diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

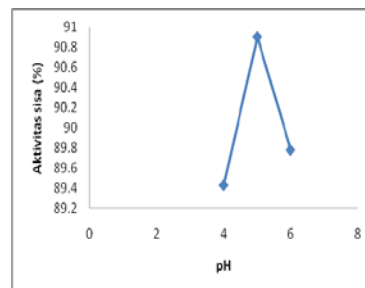
#### **Pengaruh Temperatur**

Enzim xilanase diatur pada variasi temperatur dan diinkubasi selama 9 jam. Setelah selesai diinkubasi ditambahkan substrat xilan sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit dan didinginkan sampai suhu kamar. Ditambahkan buffer asetat pH 5 sebanyak 5 mL, air bebas reduktor 1 mL, diinkubasi pada 60 °C selama 55 menit, dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit. Ditambahkan 2 mL DNS dan dipanaskan selama 5 menit dalam air mendidih, didinginkan dan dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditandabatkan dengan akuades. Sampel diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

## Hasil dan pembahasan

### Pengaruh pH

Pengaruh pH terhadap kestabilan aktivitas enzim ditentukan dengan cara mengukur aktivitas sisa, yaitu aktivitas enzim yang diukur setelah enzim diinkubasi pada variasi pH yaitu 4, 5, dan 6, temperatur 60°C selama 9 jam. Aktivitas terukur selanjutnya dibandingkan dengan aktivitas awal tanpa perlakuan inkubasi. Data yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 2.

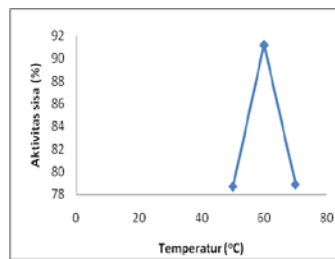


Gambar 2. Pengaruh pH terhadap kestabilan aktivitas sisa xilanase

Pada pH 5 enzim xilanase mengalami penurunan aktivitas paling kecil, atau enzim mempunyai kestabilan tinggi. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada pH tersebut enzim mempunyai muatan yang mendukung kestabilan struktur enzim. Pada pH 4 enzim bermuatan lebih positif dan pada pH 6 enzim bermuatan lebih negatif, hal ini dapat menyebabkan kestabilan struktur enzim terganggu karena adanya tolakan antara muatan sejenis pada residu asam amino penyusun enzim xilanase, akibatnya aktivitas enzim semakin berkurang. Penurunan aktivitas xilanase juga dapat disebabkan karena aktivitas protease yang dihasilkan oleh *T. viride*.

### Pengaruh Temperatur

Selain pH, temperatur juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kestabilan aktivitas enzim xilanase. Variasi temperatur yang digunakan pada rentang temperatur optimum yaitu 50°C, 60°C, dan 70°C yang diinkubasi selama 9 jam. Aktivitas terukur selanjutnya dibandingkan dengan aktivitas awal tanpa perlakuan inkubasi. Data yang diperoleh disajikan pada gambar 3.



Gambar 3 Pengaruh temperatur terhadap kestabilan aktivitas xilanase

Xilanase kurang stabil bila diinkubasi pada temperatur 50°C, hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan aktivitas yang cukup besar pada temperature tersebut. Ketidak stabilan ini kemungkinan disebabkan karena pada temperature tersebut aktivitas protease masih tinggi. Penelitian C.L. Lu, S. Chen, S.N. Chen, 2010 menunjukkan bahwa aktivitas optimum protease dari fraksi murni jamur *A. Mellea* terjadi pada temperatur 55°C. Pada temperature 60°C protease sudah mengalami penurunan aktivitas, sehingga pada temperature tersebut xilanase mengalami penurunan aktivitas lebih kecil, atau xilanase lebih stabil bila diinkubasi pada temperature tersebut. Sedangkan pada temperature 70°C, xilanase tidak stabil ditunjukkan oleh penurunan aktivitas yang lebih besar. Hal ini disebabkan karena struktur xilanase rusak karena proses denaturasi.

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian yang telah dilakukan adalah:

1. Aktivitas xilanase masih stabil bila enzim diinkubasi selama 9 jam pada pH 4, 5, 6 dan pada temperature 50, 60, 70 °C.
2. Kestabilan aktivitas xilanase paling tinggi terjadi saat enzim diinkubasi pada pH 5 dan temperature 60°C

## DAFTAR PUSTAKA

1. Soewoto, H., dkk, 2001, **Biokimia Eksperimen Laboratorium**, Widya Medika, Jakarta.
2. Girindra, A., 1993, **Biokimia I**, PT.Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
3. Muawanah, A., 2006, **Produksi Enzim Xilanase Termotabil *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 pada Bagasse Tebu**, Tesis IPB, Bogor, diakses tanggal 20 Februari 2013.

4. Ramadhan, P., 2011, **Pengaruh Temperatur dan pH Terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase dari *Aspergillus niger* Hasil Fraksinasi Menggunakan Ammonium Sulfat**, Skripsi, Universitas Brawijaya, Malang.
5. Gaman, P.M & K.B. Sherrington. (1994). **Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi**. Universitas Gadjah Mada press. Yogyakarta.
6. C.L. Lu, S. Chen, S.N. Chen **Aktivitas protease Fraksi Murni dari Jamur *A. Mellea*** J. Food Drug Anal.18(2010) 69.
7. M.H. Shen, J.S. Kim, K. Sapkota, S.E. Park, B.S. Choi, S. Kim, H.H. Lee, C.S. Kim, H.S. Chun, C.I. Ryoo, S.J. Kim, **Aktivitas protease Fraksi Murni dari Jamur Tiram (*P. ostereatus*)** J. Microbiol. Biotech.17 (2007) 1271.
8. S.E. Park, M.H. Li, J.S. Kim, K. Sapkota, J.E. Kim, B.S. Choi, Y.H. Yoon, J.C.Lee, H.H. Lee, C.S. Kim, S.J. Kim, **Aktivitas protease Fraksi Murni dari Jamur *F. velutipe*** Biosci. Biotechnol. Biochem. 71 (2007) 2214.